

(19) 日本国特許庁 (J P)

(12) 公開特許公報 (A)

(11) 特許出願公開番号

特開平6-324046

(43) 公開日 平成6年(1994)11月25日

(51) Int.Cl. ⁸	識別記号	庁内整理番号	F I	技術表示箇所
G 0 1 N 33/574	Z	8310-2 J		
33/53	D	8310-2 J		

審査請求 未請求 請求項の数4 F D (全 7 頁)

(21) 出願番号	特願平6-71308	(71) 出願人	591038141 寶酒造株式会社 京都府京都市伏見区竹中町609番地
(22) 出願日	平成6年(1994)3月17日	(72) 発明者	片山 政彦 滋賀県大津市瀬田3丁目4番1号 寶酒造 株式会社中央研究所内
(31) 優先権主張番号	特願平5-82506	(72) 発明者	平井 小百合 滋賀県大津市瀬田3丁目4番1号 寶酒造 株式会社中央研究所内
(32) 優先日	平5(1993)3月18日	(72) 発明者	加藤 郁之進 滋賀県大津市瀬田3丁目4番1号 寶酒造 株式会社中央研究所内
(33) 優先権主張国	日本 (J P)	(74) 代理人	弁理士 中本 宏 (外2名)

(54) 【発明の名称】 悪性腫瘍の検出方法及びキット

(57) 【要約】

【目的】 体液可溶性Eカドヘリン量を測定することにより悪性腫瘍を検出する方法、及びキットを提供する。

【構成】 体液中の体液可溶性Eカドヘリン量を測定し、その値を健常値と比較する悪性腫瘍の検出方法。体液可溶性Eカドヘリンに反応性を有する抗体を含有する、上記検出方法を実施するための悪性腫瘍検出用キット。体液の例には血清、血漿、及び尿がある。

【効果】 悪性腫瘍の検出を迅速、簡便に行うことができる。

Best Available Copy

【特許請求の範囲】

【請求項1】 体液中の体液可溶性Eカドヘリン量を測定し、その値を健常値と比較することを特徴とする悪性腫瘍の検出方法。

【請求項2】 体液可溶性Eカドヘリンに反応性を有する抗体を用いて体液可溶性Eカドヘリン量を測定する請求項1記載の方法。

【請求項3】 体液として血清、血漿、又は尿を用いる請求項1又は2記載の方法。

【請求項4】 体液中の体液可溶性Eカドヘリン量を測定し、その値を健常値と比較することによって悪性腫瘍の検出を行うためのキットであって、体液可溶性Eカドヘリンに反応性を有する抗体を含有することを特徴とする悪性腫瘍検出用キット。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【産業上の利用分野】 本発明は悪性腫瘍の検出方法及び検出用キットに関する。

【0002】

【従来の技術】 カドヘリンは分子量約10万前後の膜貫通ドメインを持つ細胞膜表面分子であり、細胞-細胞間の接着に関して、共存するCa²⁺イオン依存的に機能を発揮するタンパク質である。現在までカドヘリンには数多く分子種が発見されており、その中でも最も古くに単離同定された分子種としてEカドヘリン、Nカドヘリン、Pカドヘリンの3種がよく知られている。これらの3種の分子種はそれぞれ同一分子種同志のみが選択的に結合する性質を示すことが知られており、これらの同質結合機構がカドヘリン族の特徴の1つと考えられている。これらのカドヘリン分子種は、特に生命体の発生と分化の過程で組織構築に働く重要な細胞間接着分子であることが知られており、神経組織や心臓や胎盤といった生体内の特定の臓器にそれぞれ一定の分子種が主に分布していることが多く、それぞれの組織の形成に細胞接着機能を発揮していると考えられている (M. タケイチ (M. Takeichi)、サイエンス (Science)、第251巻、第1451~1455頁 (1991))。これら代表的3種のカドヘリンのうち、Eカドヘリンはヒトやマウスなどにおいて上皮細胞や上皮組織に主に発現する分子であり、免疫組織染色法などを用いて様々な疾患の組織中の局在などが調べられている (Y. シモヤマ (Y. Shimoyama)ら、キャンサー・リサーチ (Cancer Research)、第49巻、第2128~2133頁 (1989))。それらの検討の結果から、特に悪性腫瘍組織においてEカドヘリン発現量が減少している現象が数多く見出されている。また、動物実験においても、悪性腫瘍細胞株のうちEカドヘリン発現量が多く細胞間接着が強い株に比べて、Eカドヘリン発現量が少なく細胞間接着が弱い株の方が悪性度が高く、高い確率で転移病巣を形成する傾向が見出されている (U. H. フリクセン (U. H. Friksen)ら、ジャーナル・オブ・セルバイオロジー (Journal of Cell Biology)、第113巻、第173~185頁 (1991))。これらの結果から、細胞表面に

に表示しているEカドヘリンの量と悪性腫瘍の転移性能や悪性度の間には、密接な関連があると推測されている。

【0003】 また一方では、本質的に膜貫通領域を分子内部に有するカドヘリンは界面活性剤などを含む溶媒中においてのみ可溶化する性質を持ち、また、界面活性剤を含まない溶媒中においては細胞抽出液などにおいてカドヘリン分子の細胞外領域の一部が極めてプロテアーゼにより切断され易く、切り出された分子量8万前後の低分子カドヘリン分解断片は界面活性剤などを含まない水系溶媒中で可溶化状態で存在できることが既に知られている (M. J. フィーロック (M. J. Wheelock)ら、ジャーナル・オブ・セルラー・バイオケミストリー (Journal of Cellular Biochemistry)、第34巻、第187~202頁 (1987))。しかしながら、プロテアーゼにより生じるカドヘリン分解物がヒトや動物などの生体液中に存在することは従来全く知られていなかった。また、このことは従来カドヘリン分解物を主要な構成分子とする可溶性カドヘリンの溶液中濃度を測定し、含有量を算出する技術が存在しなかったことにも起因する。

【0004】

【発明が解決しようとする課題】 また、古くから解析されてきた細胞上のEカドヘリン発現量と悪性腫瘍などの疾患との関連についても従来Eカドヘリン検出技術として用いられてきた抗体による組織化学的検出法やフローサイトメトリーやウエスタンブロッティング法や免疫沈降法などの方法はいずれも定性的方法によるものであり、患者などからの組織生検材料の採取に危険が伴ったり、試薬や機器の準備などに時間がかかるなどの点において、実際に疾患の診断などの臨床的应用が極めて難しいものであった。本発明の目的は体液可溶性Eカドヘリンを簡便に定量する方法を確立し、該方法を用いて悪性腫瘍を検出する方法及びキットを提供することにある。

【0005】

【課題を解決するための手段】 本発明を概説すれば、本発明の第1の発明は悪性腫瘍の検出方法に関し、体液可溶性Eカドヘリン量を測定し、その値を健常値と比較することを特徴とする。また本発明の第2の発明は悪性腫瘍検出用キットに関し、体液中の体液可溶性Eカドヘリン量を測定し、その値を健常値と比較することによって悪性腫瘍の検出を行うためのキットであって、体液可溶性Eカドヘリンに反応性を有する抗体を含有することを特徴とする。

【0006】 本発明者らは以上述べられた従来技術の問題点を考慮し、体液可溶性Eカドヘリンの溶液中微量濃度を簡便に測定する方法を確立し、その測定法によりヒト及び動物の体液中に体液可溶性Eカドヘリンが一定量